
Minireview

VII 型コラーゲンとその関連疾患

玉井 克人, 村井 孝弥, 間山 真美子, 橋本 功

弘前大学医学部皮膚科教室

Type VII Collagen and Related Diseases

Katsuto TAMAI, Takaya MURAI, Mamiko MAYAMA and Isao HASHIMOTO

Department of Dermatology, Hirosaki University School of Medicine

Abstract: Type VII collagen is a major, if not exclusive, component of anchoring fibril, an attachment molecule which anchors the basement membrane of the epidermis to the underlying dermis. Recent studies have provided precise information on the structure and function of type VII collagen, which consists of a triple helical collagenous region flanked by non-collagenous domains 1 and 2 (NC-1 and NC-2) at the ends. Cloning of the gene (COL7A1) made it possible to analyze COL7A1 mutations in patients with dystrophic epidermolysis bullosa (DEB), an heritable blistering skin disease of type VII collagen defect. Mutation analysis has delineated the relations between clinical phenotypes of DEB and types of COL7A1 mutations. Particularly, most dominant DEB (DDEB) cases have been shown to have a glycine substitution in the triple helical region of the collagen, and most severe recessive DEB (RDEB) cases were found to possess a combination of mutations inducing premature termination codon (PTC). Our recent studies have clarified three recurrent mutations of COL7A1 in Japanese RDEB patients, and this finding might assist in short-cutting the analysis of the gene, which has the largest number of exons (118) in any published genes.

Keywords: type VII collagen, anchoring fibril, dystrophic epidermolysis bullosa, genetic disease

はじめに

VII 型コラーゲンは皮膚基底膜領域の接着分子である係留線維 anchoring fibril の構成成分で、表皮真皮間、特に基底膜と真皮の接着に重要な役割を果たしていることが、最近の VII 型コラーゲンの生化学、分子生物学および先天性表皮水疱症研究の進展により明らかにされた。本稿では、VII 型コラーゲンの構造・機能をまとめ、次にその関連疾患、特に遺伝子異常により生じる病態について、最近の知見を概説する。

VII 型コラーゲンの構造と係留線維の形成

VII 型コラーゲンは、2944 個のアミノ酸からなる約 290 kD のポリペプチド鎖が 3 本重合した三量体 ($[\alpha 1(\text{VII})]_3$) で、分子中央の Gly-

X-Y 繰り返し構造からなる、いわゆるコラーゲン領域により三重らせん構造を形成し、その両端に非コラーゲン領域 (NC-1 ドメインと NC-2 ドメイン) を有する (Fig. 1)¹⁾。VII 型コラーゲン mRNA のサイズは約 9 kb で、その全塩基配列の決定により、VII 型コラーゲン分子の詳細な構造が明らかになった²⁾。N 末端側に位置する約 145 kD の NC-1 ドメインは、cartilage matrix protein, fibronectin type III-like domain, von Willebrand factor A domain などと相同性の高い部分を有し、この領域を介して基底膜の他のコンポーネントと接着すると考えられる^{1,2)}。C 末端側の NC-2 ドメインは約 20 kD で、この領域内にある 8 個のシステインを介して二つの VII 型コラーゲン分子が互いに向き合ってジスルフィド結合し (anti-parallel dimer)、このダイマー分子がさ

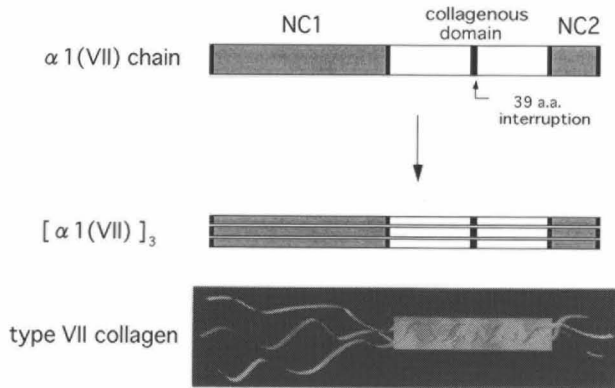


Fig. 1 Schematic structure of type VII collagen. Type VII procollagen ($\alpha 1$ (VII) chain) is composed of a central collagenous domain and flanking non-collagenous domains (NC-1 and NC-2). Type VII collagen consists of homo-trimer of this procollagen [$\alpha 1$ (VII)]₃, forming a characteristic triple helical structure in the central collagenous domain.

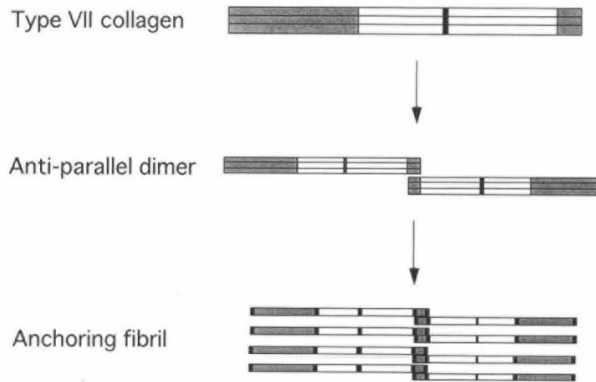


Fig. 2 Pattern of anchoring fibril formation from type VII collagen. Antiparallel dimer of type VII collagen is formed in the NC-2 domains by disulfide bond formations. Further lateral association of the antiparallel dimers constructs anchoring fibril, an epidermis to dermis attachment structure.

らに側方に複数重合することにより係留線維 anchoring fibril (AF) が形成される (Fig. 2)³⁾. 中央のコラーゲン領域は、数カ所で Gly-X-Y の繰り返し構造が中断されており、中でも 39 個のアミノ酸の挿入による中断が最大である (Fig. 1)²⁾. これら中断部位がヒンジの機能を果たすことにより、VII 型コラーゲンに構

造的柔軟性を与えていると考えられている。

皮膚における VII 型コラーゲンの局在

これまでのところ、VII 型コラーゲンは係留線維を構成する唯一の蛋白分子と考えられている¹⁾. 電顕的観察では、係留線維は表皮・真皮間の基底膜領域の真皮側に局在し、いずれもそ

の一端を基底膜 (lamina densa) に付着しており, 垂直に走行して真皮乳頭部に終了するもの, あるいはループを形成して基底膜に戻るものが観察される²⁾. 前述したように, 係留線維の両端は VII 型コラーゲンの NC-1 ドメインの束からなり (Fig. 1 および 2), この部分で他の基底膜成分と結合している. 最近 Shimizu らは, 基底膜部での係留線維の免疫電顕的定量法により, NC-1 ドメインの 90% 以上が lamina densa 上に位置することを明らかにし, 係留線維の殆どが, 実際は両端を lamina densa に付着するループ型である可能性を報告している⁴⁾.

VII 型コラーゲンの機能と その異常による疾患

VII 型コラーゲンは, その特徴的構造により基底膜と真皮乳頭部でネットワークを形成し, 基底膜を含む表皮と真皮との結合に重要な役割を果たしていると考えられる¹⁾. このことは, VII 型コラーゲンに異常をきたす疾患群が, いずれも表皮・真皮境界部で基底膜直下の真皮側に裂隙, 水疱を形成することからも明らかである.

VII 型コラーゲンに異常をきたす代表的疾患としては, VII 型コラーゲンに対する自己抗体 (IgG クラス) 産生により発症する後天性表皮水疱症 epidermolysis bullosa acquisita (EBA) と, VII 型コラーゲンの遺伝子異常による栄養障害型先天性表皮水疱症 dystrophic epidermolysis bullosa (DEB) の二つが挙げられる^{5,6)}. 他に線状 IgA 水疱性皮膚症 linear IgA bullous dermatosis (LABD) の sub-lamina densa 型や水疱性ループスエリテマトーデス bullous SLE の一部症例に VII 型コラーゲンに対する自己抗体陽性例の報告がある^{7,8)}. いずれの疾患も皮膚基底膜直下の真皮側での水疱形成と, 治癒時の瘢痕形成を特徴とする. 本稿では, 紙面の枚数の都合上, 自己免疫疾患群の詳細は他書に譲り, 以下に DEB について概説する.

DEB の臨床像

DEB は, 日常の軽微な外力で全身の皮膚, 粘膜に水疱や糜爛, 潰瘍の形成を繰り返し, 治癒後の著明な瘢痕形成を特徴とする⁹⁾. 遺伝形式により優性型 dominant DEB (DDEB) と劣性型 recessive DEB (RDEB) の 2 型に分けられる. DDEB は比較的軽症で, 加齢と共に軽快する傾向を示す一方, RDEB は症状の比較的軽度な軽症型 (Mitis 型) から, 著明な指趾の癒合, 食道や肛門狭窄をきたす重症型 (Hallopeau-Siemens 型) まで症状の軽重が多彩で, 加齢と共に悪化傾向を示す⁹⁾. DEB の診断は, 臨床症状に加えて, 電顕的に lamina densa 直下の裂隙形成と, 係留線維の数の減少 (DDEB あるいは RDEB の Mitis 型) ないしは消失 (Hallopeau-Siemens 型) を観察することにより確定される⁹⁾.

COL7A1 の変異パターンと病型との関係

VII 型コラーゲンの cDNA 及びゲノム DNA がクローニングされたことにより, DEB 患者 DNA における VII 型コラーゲン遺伝子 (COL7A1) の変異検索が可能となった^{2,10)}. 現在までに, 本邦症例を含む多くの DDEB および RDEB 症例において COL7A1 の変異が同定されており, これまでのところ, DEB 症例で COL7A1 以外の遺伝子変異は同定されていない⁶⁾.

DDEB で同定される COL7A1 の変異は, その殆どがコラーゲン領域における Gly-X-Y 繰り返し構造のグリシンを他のアミノ酸に変えるグリシン置換型変異である⁶⁾. この変異を有する VII 型コラーゲン前駆体ポリペプチド鎖は, もう一方の正常遺伝子由来の分子と重合してコラーゲン構造を形成するが, グリシン置換分子を含むことにより三量体の安定性が阻害され, 容易に変性, 消失すると考えられている (ドミナント・ネガティブ効果)⁶⁾. この場合, 正常の分子のみによる三量体ができる割合は 1/8 で, これによりある程度基底膜領域の強度が維持されるため, DDEB の症状は比較的軽症に

Table 1 Correlations between clinical phenotypes and COL7A1 mutations

Clinical phenotypes	Types and combinations of COL7A1 mutation
DDEB	GS
RDEB	PTC/PTC GS/GS PTC/Missense
Severe forms	PTC/PTC
Mild forms	PTC/Missense
	PTC/GS
	Missense/Missense
	GS/In-frame deletion
	In-frame deletion/In-frame deletion

PTC : premature termination codon, GS : glycine substitution.

とどまることが多い。

RDEB では、その多彩な臨床像を反映し、様々な種類の COL7A1 変異が同定されている⁹⁾。最も重症型である Hallopeau-Siemens 型に同定される変異の殆どは、早期停止コドン premature termination codon (PTC) を誘導する変異で、その変異部位に PTC を生じるナンセンス変異や、アミノ酸の読み枠のずれ (フレームシフト) により変異部位の下流に PTC を誘導する塩基欠失・挿入型変異などである。これら変異を COL7A1 の対立遺伝子両者に合わせ持つ RDEB 症例では、PTC 以降の領域の欠損により、多くの場合コラーゲン領域や NC-2 ドメインを欠き、三量体やダイマー構造を形成できない。そのため係留線維は全く形成されず、これが重症化の原因と考えられる。またある種の PTC は、これを持つ mRNA の安定性を極度に阻害することが知られており、この場合その PTC の位置にかかわらずコラーゲン分子は全く合成されないため、やはり重症型となる¹¹⁾。比較的症状の軽い Mitis 型では、二つの変異の少なくとも一方は、PTC 誘導型以外の変異、即ちアミノ酸置換型変異 (ミスセンス変異) や一部のアミノ酸の欠失、挿入を誘導するインフレーム欠失・挿入型変異である。グリシン置換型変異の中には、その変異の位置・種類によってはドミナント・ネガティブ効果を持たないものもあり (サイレントグリシン置換)¹²⁾、この場合もう一つの変異との組み合わせの種類により、軽症型から重症型まで様々な

臨床像を呈する⁹⁾。以上の変異パターンと臨床像との関係を、Table 1 にまとめる。

本邦 RDEB に同定された高頻度変異

われわれは、本邦 RDEB 症例における COL7A1 変異の検索の過程で、ある種の変異が本邦 DEB 症例で特異的に同定されることを見出した^{13,14)}。すなわち、エクソン 70 の 5818 delC (cDNA の翻訳開始点から 5818 番目のシトシンが欠失する変異)、エクソン 81 の 6576+1 GtoC (cDNA 翻訳開始点から 6576 番目の塩基が COL7A1 エクソン 81 の 3' 末端で、これに続くイントロンの最初の塩基グアニンがシトシンに置換し、同部位でスプライシングが生じなくなる変異)、エクソン 116 の E 2857 X (開始コドンのメチオニンから数えて 2857 番目のグルタミン酸をコードするコドンが停止コドンに変わる変異) の 3 種類である。これらはいずれも PTC 誘導型変異で、50 例の本邦 RDEB 症例中それぞれ 9 例、6 例、9 例に同定された。今後、本邦 RDEB 症例の COL7A1 変異検索では、まずこれら高頻度変異をスクリーニングすることにより、検索に要する時間を大幅に節約できる可能性がある。一方、欧米の RDEB 150 症例の検索でこれらの変異は全く同定されておらず、これらの変異が共通の祖先に由来するものか、あるいは本邦ではこの領域に変異を生じやすい原因があるのかなど、今後の更なる研究が必要である。

最 後 に

VII 型コラーゲン分子の構造や機能, その異常により生じる DEB の研究は, 上述したように近年飛躍的に進展した。既にこれらの結果は, 遺伝子診断による DEB の予後の決定や出

生前診断などに応用されつつある。しかし, 実際の臨床の場で聞くのは, 治療法を切望する患者さんやその両親の声である。今後この方面により多くの研究者が参加して, 遺伝子治療を含むより有効な治療法が開発されることを期待したい。

文 献

- 1) Burgeson, R. E. (1993) Type VII collagen, anchoring fibrils, and epidermolysis bullosa. *J. Invest. Dermatol.* **101**, 252-255
- 2) Christiano, A. M., Greenspan, D. S., Lee, S., and Uitto, J. (1994) Complete primary sequence of the $\alpha 1$ (VII) chain and identification of intragenic polymorphisms. *J. Biol. Chem.* **269**, 20256-20262
- 3) Morris, N. P., Keene, D. R., Glanville, R. W., Bentz, H., and Burgeson, R. E. (1986) The tissue form of type VII collagen is an antiparallel dimer. *J. Biol. Chem.* **261**, 5638-5644
- 4) Shimizu, H., Ishiko, A., Masunaga, T., Kurihara, Y., Sato, M., Tuderman, L. B., and Nishikawa, T. (1997) Most anchoring fibrils in human skin originate and terminate in the lamina densa. *Lab. Invest.* **76**, 753-763
- 5) Woodley, D. T., Burgeson, R. E., Lunstrum, G., Bruckner-Tuderman L., Ree, M. J., and Briggaman, R. A. (1988) Epidermolysis Bullosa acquisita antigen is the globular carboxyl terminus of type VII procollagen. *J. Clin. Invest.* **81**, 683-687
- 6) Christiano, A. M., and Uitto, J. (1996) Molecular complexity of the cutaneous basement zone. Revelations from the paradigms of epidermolysis bullosa. *Exp. Derm.* **5**, 1-11
- 7) Ruenko, K. W., Gammon, W. R., and Briggaman, R. A. (1989) Type VII collagen is the antigen recognized by IgA anti-sub lamina densa autoantibodies. *J. Invest. Dermatol.* **92**, 510 (abst.)
- 8) Gammon, W. R., and Briggaman, R. A. (1993) A phenotypically distinctive but immunologically heterogeneous bullous disorder. *J. Invest. Dermatol.* **100**, 28S-34S
- 9) 橋本 功 (1992) 図説皮膚疾患講座, メディカルビュー社, 東京, pp. 176-181
- 10) Cristiano, A. M., Hoffman, G. G., Chung-Honet, L. C., Lee, S., Cheng, W., Uitto, J., and Greenspan, D. S. (1994) Structural organization of the human type VII collagen gene (COL7A1), comprised of more exon than any previously characterized gene. *Genomics* **21**, 169-179
- 11) Cui, Y., Hagan, K. W., Zhang, S., and Peltz, S. (1995) Identification and characterization of genes that are required for the accelerated degradation of mRNAs containing a premature translational termination codon. *Genes Dev.* **9**, 423-436
- 12) Shimizu, H., McGrath, J. A., Christiano, A. M., Nishikawa, T., and Uitto, J. (1996) Molecular basis of recessive dystrophic epidermolysis bullosa: genotype/phenotype correlation in a case of moderate clinical severity. *J. Invest. Dermatol.* **106**, 119-124
- 13) Tamai, K., Ishida-Yamamoto, A., Matsuto, S., Iizuka, H., Hashimoto, I., Christiano, A. M., and Uitto, J. (1997) Compound heterozygosity for a nonsense mutation and a splice site mutation in the type VII collagen gene (COL7A1) in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Lab. Invest.* **76**, 209-217
- 14) Tamai, K., Shikama, Y., Murai, T., Sasaki, T., Nakano, H., Sawamura, D., Hashimoto, I., Ishida-Yamamoto, A., McGrath, J., Kon, A., Christiano, A., and Uitto, J. (1997) Japanese common mutations of type VII collagen gene (COL7A1) in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J. Invest. Dermatol.* **108**, 648 (abst.)

(Received for publication November 17, 1997)

Reprint requests to: Katsuto Tamai Department of Dermatology, Hirosaki University School of Medicine, Zaifu-cho 5, Hirosaki, 036, Japan Tel. 0172-39-5087, Fax. 0172-37-6060, e-mail: katsuto@cc.hirosaki-u.ac.jp